

磷化氢、二氧化碳混合气体对 腐食酪螨成螨的生物学效应

蔚福记 陈启宗 陆安邦

(郑州粮食学院粮油储藏系 郑州 450052)

摘要 本文研究结果表明:腐食酪螨 *Tyrophagus putrescentiae*(Schränk)成螨在 0%、8%、16%(容积比) CO_2 气体中耗氧量随 CO_2 浓度的增加而增加,当在 32%、64% CO_2 气体中,该成螨的耗氧量反倒低于其在正常大气中的耗氧量。在 0%、8%、16%、32%、64% CO_2 与 0.05mg/L PH_3 混合气体中该成螨对 PH_3 的吸收量分别为 1.11 ± 0.92 、 1.79 ± 0.56 、 5.14 ± 1.13 、 7.60 ± 1.80 、 $8.08 \pm 0.85 \mu\text{g/hr/g}$,在同一 CO_2 浓度条件下试螨对 PH_3 的吸收量在高浓度 PH_3 (0.45mg/L) 中明显大于在低浓度 PH_3 (0.05mg/L) 中,但 PH_3 吸收量的增加倍数远远低于 PH_3 浓度的增加倍数。 PH_3 对该螨过氧化氢酶的抑制体内酶高于离体酶,细胞色素 C 氧化酶受 PH_3 抑制则相反。被 PH_3 抑制的过氧化氢酶和细胞色素 C 氧化酶活性恢复时间分别为二周和一周。本文还对 PH_3 的可能杀螨机理及 CO_2 在此过程中的作用进行了讨论。

关键词 腐食酪螨,磷化氢,细胞色素 C 氧化酶,过氧化氢酶,耗氧量

磷化氢 (PH_3) 是国内外应用最为广泛的储藏物熏蒸剂之一。其杀虫机理国外许多学者进行了研究。Price 等^[1,2]报道: PH_3 抑制了昆虫体内过氧化氢酶的活性,进而导致 H_2O_2 、 O_2 的积累。Nakakita 等^[3]报道 PH_3 能抑制该螨细胞色素 C 氧化酶的活性。Al-Hakkak 等^[4]认为 PH_3 能抑制乙酰胆碱酯酶的活性。

已经确认 CO_2 能影响昆虫的呼吸而且较高浓度的 CO_2 可以杀死昆虫。已有 CO_2 与 PH_3 混合熏蒸杀虫、杀螨获得成功的报道^[5,6]。

腐食酪螨 *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk) 是主要的储藏物螨种。磷化氢对储藏物螨的生物学效应研究未见报道。本文报道在实验室条件下测定腐食酪螨成螨在不同浓度 CO_2 条件下的耗氧量、对 PH_3 的吸收量、过氧化氢酶、细胞色素 C 氧化酶被 PH_3 抑制后的活力,为储藏物熏蒸杀螨提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试螨种 试螨为腐食酪螨 15 ± 1 日龄成螨,该螨采集于郑州酒精厂。试螨先在室温下培养三代后(约 66 天),再在温度 $27^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $\text{RH}75 \pm 5\%$ 条件下培养 5 代。取通过 160 目选筛的卵孵化饲养至 15 天的成螨供试。饲料为全小麦粉加 5% 的酵母粉。全小麦粉经 60°C 加热处理 2 h 后再在相对湿度 $75\% \pm 5\%$ 的条件下平衡一周。

1.2 磷化氢的发生和浓度控制 采用磷化锌酸式法发生 PH_3 ,磷化锌(沈阳农药厂生产)含量 75.21%,硫酸浓度 10%—20% (重量/体积),按梁权等^[7]所描述的装置发生和稀释

PH_3 , PH_3 浓度按国标 GB5009-85 钼蓝比色法测定并作了改进,即去掉分液漏斗及反应瓶,在气体吸收管前用 5 μl 微量进样器在 25 min 内向橡皮管中均匀注入 PH_3 气体。

1.3 熏蒸瓶 熏蒸瓶由 600ml 广口瓶改装而成。使用前用饱和食盐水定容至 500ml,控制瓶内相对湿度为 $75\% \pm 5\%$ 。为防止漏气和减少瓶盖橡皮塞对气体的吸附,密封熏蒸瓶时在瓶塞上涂一层火棉胶,并用石蜡封口。

1.4 气体成分的配制和调节 CO_2 、 O_2 、 N_2 浓度的配制参照 Spratt^[8]所描述的装置和方法并做了如下改进, N_2 、 O_2 、 CO_2 三种气体以不同比例的流速经减压阀、稳压阀、转子流量计进入气体混合瓶,待稳定后用奥氏气体分析仪测定各气体浓度。经调节各气体流速使其浓度与设计浓度误差不大于 0.5%。将气体混合瓶与 15—20 个熏蒸瓶串联,通气 30 min。测定最后一个熏蒸瓶中 CO_2 、 O_2 、 N_2 浓度,待其浓度与所设计浓度误差不大于 0.5%时,立即关闭熏蒸瓶上的通气软管,备用。

1.5 试螨在 CO_2 中耗氧量测定 参照 Tadmor等^[9]的气相色谱法原理并按以下方法操作。在分析天平上准确称取试管的重量(内径 1cm,长约 4cm,两端开口,而且一端已用宣纸封严),放入约 20 毫克经上述饲养的试螨并精确称重,待另一端用宣纸封严后,放入经上述处理过的熏蒸瓶中,然后按气体成分的配制和调节的方法进行配气,密闭 48 h 后用气密注射器抽样分析。 CO_2 有 5 个浓度,每个浓度 3 个重复,每个重复抽双样。

气相色谱仪为日本 GC-5A 型,色谱测定条件为:

色谱柱: 不锈钢柱。填充物为 5A 分子筛(60—80 目), $\Phi = 3\text{mm} \times 2\text{m}$ 。

检测器: 热导检测器。

温度: 气化室 70°C ,柱温 $50 \pm 1^\circ\text{C}$,检测器 80°C 。

流速: 载气 H_2 , 40ml/min。

桥电流: 100mA。

衰减: 32。

纸速: 10mm/min。

为有助于 CO_2 与 O_2 和 N_2 的气相分离,在气相色谱进样口的前后附加有装填烧碱石棉的支管。

1.6 CO_2 中试螨吸收 PH_3 量的测定 利用近似估算法测定。即通过测定混合气体中 PH_3 的减少量计算试螨对 PH_3 的吸收量。 PH_3 2 个浓度, CO_2 5 个浓度,每个浓度 2 个重复,每个重复抽双样。试验时按上述方法把试螨放入熏蒸瓶中注射 PH_3 。在温度 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $75 \pm 5\%$ 条件下放置 24 h 后用气密注射器抽样分析。磷化氢浓度测定方法、气相色谱仪型号、色谱测定条件同张华晓等^[10]介绍的方法。

1.7 过氧化氢酶及细胞色素 C 氧化酶被 PH_3 抑制后酶活力测定 缓冲溶液 I: 0.25 mol/L 蔗糖、0.5mmol/L 乙二胺四乙酸、10mmol/L Tris, pH7.4。

缓冲溶液 II: 磷酸氢二钠-磷酸二氢钾缓冲液, pH7.4。

1.7.1 离体酶 (*in vitro*) 被 PH_3 抑制后活力测定

称取约 30mg 成螨于 2ml 缓冲溶液中(测过氧化氢酶活力用缓冲液 II,测细胞色素 C 氧化酶活力用缓冲溶液 I),迅速在冰浴中研磨(国产组织研磨器 99MM),所得匀浆用玻璃棉过滤到玻璃试管中,按照 Brandford^[11]的方法测定其蛋白质浓度,并通过加缓冲

溶液把蛋白质浓度调整到 1mg/L。把带有一段输液软管的橡皮塞套入玻璃试管的顶端后用石蜡封口, 用止气夹夹住输液软管使整个装置密闭。用气密注射器注入已知浓度的 PH_3 , 使其中 PH_3 浓度达 200mg/L。在 0°C — 4°C 条件下分别密闭 3、6 h 后按 Price 等^[1,2] 的方法在第 1 天、第 7 天、第 14 天分别测定过氧化氢酶及细胞色素 C 氧化酶的活力。

1.7.2 体内酶 (*in vivo*) 被 PH_3 抑制后活力测定 称取约 30mg 成螨于玻璃试管中, 按照上述方法使整个装置密闭后, 用气密注射器注入已知浓度的 PH_3 , 使其中 PH_3 浓度达 2.0mg/L, 在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 条件下密闭 6 h, 此时 80% 左右的试螨死亡。取出试螨置于 2ml 缓冲溶液中(测过氧化氢酶活力用缓冲液 II, 测细胞色素 C 氧化酶活力用缓冲溶液 I), 迅速在冰浴中研磨(国产组织研磨器 99MM)。所得匀浆用玻璃棉过滤到玻璃试管中, 按照上述方法测定蛋白质浓度, 并通过加缓冲溶液把蛋白质浓度调整到 1mg/L。按 Price 等^[1,2] 的方法在第 1 天、第 7 天、第 14 天分别测定过氧化氢酶及细胞色素 C 氧化酶的活力。

在上述试验中, 每组试验至少重复 2 次, 每个重复至少取 2 个试样分析, 除在实验时, 酶液均在 0 — 4°C 条件下保存。

2 结果

2.1 不同浓度 CO_2 中试螨的耗氧量 表 1 为不同浓度 CO_2 中试螨的耗氧量。从中可以看出, 当试螨暴露在 8%、16% 的 CO_2 中, 耗氧量分别是正常大气的 1.160、1.787 倍, 然而在 32% 及 64% 的 CO_2 中, 试螨耗氧量反而比在正常大气中低, 其耗氧量与在正常大气中的耗氧量的比值分别为 0.311、0.497。

表 1 不同浓度 CO_2 中腐食酪螨成螨耗氧量 单位: mg/hr·g (螨重)

CO_2 浓度(%)	0	8	16	32	64
耗氧量平均值±S.E	4.100±0.01	4.757±0.81	7.328±0.42	1.274±0.34	2.037±0.61
比 值*	1.0	1.160	1.787	0.311	0.497

* 比值 = $\frac{\text{在 } \text{CO}_2 \text{ 中的耗氧量}}{\text{在正常大气中的耗氧量}}$

2.2 不同浓度 CO_2 中试螨对 PH_3 的吸收量 为研究试螨呼吸量与 PH_3 进入螨体量的关系, 测定了 5 种 CO_2 和 2 种 PH_3 浓度中试螨对 PH_3 的吸收量。表 2 结果表明, 随着 CO_2 浓度的升高试螨对 PH_3 的吸收量随之增大。在同一 CO_2 浓度条件下, 试螨对 PH_3 的吸收量在高浓度 PH_3 (0.45mg/L) 中明显大于在低浓度 PH_3 (0.05mg/L) 中。但 PH_3 吸收量的增加倍数远低于 PH_3 浓度的增加倍数(磷化氢浓度的增加倍数为 9)。

从图 1 中可以看出, 在 32%、64% CO_2 中试螨的耗氧量比正常大气小, 但对 PH_3 的吸收量仍然随 CO_2 浓度的增加而增加。

2.3 PH_3 对螨过氧化氢酶及细胞色素 C 氧化酶活力的影响 表 3 为细胞色素 C 氧化酶活力测定结果。从中可以看出, 不论是离体酶还是体内酶均受到了 PH_3 的抑制, 且体内酶的抑制百分率明显小于离体酶。随着与 PH_3 接触时间的增加, 离体酶抑制百分率也

表 2 不同浓度 CO₂ 中腐食酪螨对 PH₃ 的吸收量 单位: μg/hr·g (螨重)

CO ₂ 浓度(%)	PH ₃ 浓度 0.05mg/L		PH ₃ 浓度 0.45mg/L		增加倍数
	吸收量平均值±S.E	比值*	吸收量平均值±S.E	比值*	
0	1.111±0.920	1.0	5.829±0.723	1.0	5.24
8	1.793±0.562	1.61			
16	5.137±1.125	4.62	8.70±0.121	1.49	1.69
32	7.602±1.798	6.84	13.61±0.734	2.33	1.79
64	8.083±0.85	7.27	22.21±1.653	3.81	2.75

* 比值 = $\frac{\text{在 CO}_2 \text{ 中对 PH}_3 \text{ 的吸收量}}{\text{在正常大气中对 PH}_3 \text{ 的吸收量}}$ 。
增加倍数 = $\frac{\text{在 0.45mg/L PH}_3 \text{ 中对 PH}_3 \text{ 的吸收量}}{\text{在 0.05mg/L PH}_3 \text{ 中对 PH}_3 \text{ 的吸收量}}$ 。

明显增加。被 PH₃ 抑制的酶随着保存时间的延长,酶活力逐渐恢复,到第 7 天已基本恢复。离体酶与体内酶恢复的速率相比前者相对快点,这或许与细胞色素 C 氧化酶与 PH₃

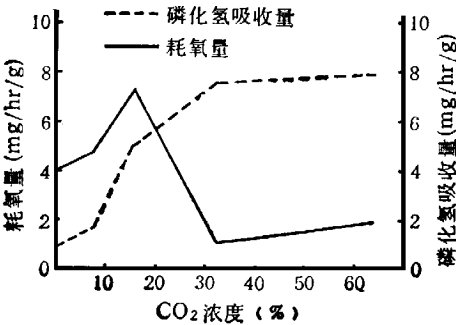


图 1 不同 CO₂ 中试螨耗氧量与 PH₃ 吸收量的关系图

或 PH₃ 的衍生物在结合位点、结合牢固程度、结合方式等方面在螨体内、酶离体条件下存在差异有关。

表 4 为过氧化氢酶活力测定结果。从中可以看出,不论是离体酶还是体内酶均受到了 PH₃ 的抑制,且体内酶的抑制百分率明显大于离体酶。随着与 PH₃ 接触时间的增加,离体酶抑制百分率也明显增加。被 PH₃ 抑制的酶活力也能随保存时间的延长而逐渐恢复,但恢复的速率与细胞色素 C 氧化酶相

比要慢,到第 14 天酶活力才基本恢复。

表 3 细胞色素 C 氧化酶活力测定结果
(单位: 被氧化的细胞色素 C μmol/蛋白质 mg·min)

测 定 时 间	第一次(第 1 天)		第二次(第 7 天)	
	酶 活 力	抑制百分率*	酶 活 力	抑制百分率*
未经 PH ₃ 处理的酶	30.8±4.4		15.4±2.2	
经 PH ₃ 处理的体内酶	20.9±1.1	32.1%	14.3±1.1	7.1%
经 PH ₃ 处理 3 h 的离体酶	17.6±2.1	42.9%	15.3±0.3	0.6%
经 PH ₃ 处理 6 h 的离体酶	13.2±0.1	57.1%	15.2±0.1	1.2%

* 抑制百分率 = $\frac{\text{未经 PH}_3 \text{ 处理的酶活力} - \text{经 PH}_3 \text{ 处理的酶活力}}{\text{未经 PH}_3 \text{ 处理的酶活力}} \times 100\%$ 。

在上述 7 天、14 天酶活力测定结果中,发现各处理组的酶活力随时间的延长而降低,这是否因保存时间过久而导致酶失活还是其它原因需进一步研究。

表 4 过氧化氢酶活力测定结果

(单位: 被还原的过氧化氢 $\mu\text{mol}/\text{蛋白质 mg}\cdot\text{min}$)

测 定 时 间	第一次(第 1 天)		第二次(第 7 天)		第三次(第 14 天)	
	酶活力	抑制百分率*	酶活力	抑制百分率*	酶活力	抑制百分率*
未经 PH_3 处理的酶	14.10 \pm 0.10		2.01 \pm 0.25		1.05 \pm 0.03	
经 PH_3 处理的体内酶	7.15 \pm 0.05	49.29%	1.20 \pm 0.20	40.29%	1.05 \pm 0.01	0%
经 PH_3 处理 3h 时的离体酶	10.85 \pm 0.04	23.05%	1.45 \pm 0.03	27.96%	1.05 \pm 0.03	0%
经 PH_3 处理 6h 时的离体酶	7.70 \pm 0.09	45.39%	1.15 \pm 0.03	42.79%	1.05 \pm 0.02	0%

* 抑制百分率 = $\frac{\text{未经 } \text{PH}_3 \text{ 处理的酶活力} - \text{经 } \text{PH}_3 \text{ 处理的酶活力}}{\text{未经 } \text{PH}_3 \text{ 处理的酶活力}} \times 100\%$ 。

3 讨论

^{32}P 标记法^[12]研究证实, 无论死虫或活虫均能吸收 PH_3 。抗性品系昆虫吸收 PH_3 较敏感品系昆虫少的原因是前者能主动排出 PH_3 。 PH_3 与 CO_2 混合熏蒸能提高昆虫对 PH_3 的吸收量^[13], 其原因是较高浓度的 CO_2 可以刺激昆虫的呼吸, 进而加速 PH_3 达到靶标部位^[14]; 而高浓度的 CO_2 能抑制昆虫的有氧代谢使耗氧量降低^[15]。Kashi 等^[16]证实, 尽管 PH_3 的吸收与昆虫呼吸有关, 但昆虫对 PH_3 的吸收量与耗氧量之间无明显的比例关系。本实验用螨作试验材料与上述以昆虫作实验材料所得结果相符, 同时据作者研究^[17], 在 PH_3 和 CO_2 混合熏蒸中, CO_2 能增加 PH_3 对成螨的毒力, 其增效系数因 CO_2 浓度而异, 最高可达 69.82。由此作者认为, PH_3 通过体壁进入螨体内, CO_2 在此过程中起到三种作用: 1. 刺激螨体内外气体交换, 加速 PH_3 向螨体内扩散使 PH_3 达到靶标位点而增效; 2. 作为载体加速 PH_3 向螨体内扩散; 3. 独立的杀螨作用。这主要是由于粉螨靠体壁进行 O_2 和 CO_2 交换, 其生存环境与昆虫相比要求较高的湿度和较低的温度, 而较高浓度的 CO_2 能使螨呼吸加快, 导致螨体内水份丧失而死亡, 这与 Bursell^[18], Hopkins 等^[19]用昆虫作实验材料所得结果相符。上述三种作用不是孤立的而是多因素的、相互联系的, 只是在不同 CO_2 浓度中以某一作用为主, 但其作用机制还待深入研究。

昆虫的 PH_3 中毒症状主要为: 附肢颤动以至肌肉活动失调被击倒、气门关闭、呼吸减弱、心跳停止、身体痉挛、最后彻底麻痹而死亡^[20]。据 Hayes^[21] 研究哺乳类动物最敏感的器官是呼吸中心, 在有氧条件下 PH_3 能与血红蛋白结合。上述实验结果与 PH_3 在有氧条件下才能发挥毒效都证明它是一种呼吸毒剂^[2]。从小白鼠肝脏中^[3]、大白鼠肝脏中、家蝇飞行肌中、谷象、玉米象和谷蠹中^[22]所分离线粒体的呼吸均被 PH_3 抑制; 进一步研究证实这主要是抑制了线粒体中细胞色素 C 氧化酶的活性^[3]。Nakakita 等^[3]用玉米象成虫研究表明, PH_3 对害虫的效应随其浓度变化而变化, 在高浓度时, PH_3 主要通过减少 O_2 的吸收, 此时 PH_3 对昆虫起麻醉作用, 线粒体达到第四呼吸状态、细胞色素 C 被还原、靶标位点对 PH_3 不敏感; 低浓度 HP , 对昆虫不起麻醉作用, 此时线粒体处于第三呼吸状态, 暴露出的靶标位点对 PH_3 敏感, 细胞色素 C 被氧化。而后, Price 等^[2]在 PH_3 中毒的谷蠹体内酶中未发现细胞色素 C 氧化酶活性有明显降低, 而其离体酶则明显受到抑制, 这说明 PH_3 能抑制离体细胞色素 C 氧化酶, 但对某物种体内细胞色素 C 氧化酶是否能抑制要看 PH_3 或其衍生物是否能有效地穿过线粒体的双层膜, 若能则有与细胞色素 C 氧化酶接

触的机会,否则无。本实验结果表明: PH_3 能同时抑制螨体内和离体细胞色素 C 氧化酶,但离体酶抑制显著,由此作者初步判定, PH_3 对螨体内细胞色素 C 氧化酶的抑制不是非常直接,可能不是最初靶点。

许多学者认为 PH_3 能抑制昆虫体内过氧化氢酶的活性^[1,2,23],也有抑制谷物的过氧化氢酶活性的报道。敏感品系昆虫体内酶受 PH_3 抑制后活性低于离体酶,抗性品系昆虫由于能主动排出 PH_3 ,减少了对 PH_3 的吸收,导致体内酶活性受抑制程度较低^[1,2]。Hobbs 等^[24]证实,过氧化氢酶被抑制 2 周后酶活力能完全恢复。本实验结果恰与上述结论相符,由此认为, PH_3 抑制螨体内过氧化氢酶进而导致细胞内过氧化氢及 O_2^- 等细胞毒素的积累造成螨中毒,这种较为缓慢的中毒过程恰与 PH_3 对试螨的作用不遵循 CT 值规律,而时间成为关键因子,及被麻醉的螨过一段时间后能复活等现象^[17]一致。因此可以认为, PH_3 对螨体内过氧化氢酶的抑制在 PH_3 毒性发挥过程中是非常重要的,可能是螨致死的主要因素。

参 考 文 献

- 1 Price, N.R., Mills, K.A., *et al.* Phosphine toxicity and catalase activity in susceptible and resistant strains of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*). Comp. Biochem. Physiol. 1982, 73: 411—413.
- 2 Price, N.R. & Dance S.J. Some biochemical aspects of phosphine action and resistance in three species of stored product beetles. Comp. Biochem. Physiol. 1983, 76: 277—281.
- 3 Nakakita, H., Katsumata Y., *et al.* The effect of phosphine on the respiration of rat liver mitochondria. J. Biochem. 1971, 69: 589—593.
- 4 Al-Hakkak, Z.S., Al-Azzawi, M.J., *et al.* Inhibitory action of phosphine on acetylcholinesterase of *Ephessia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). J. Stored. Prod. Res. 1989, 25: 171—174.
- 5 Kashi, K.P., Chefurka, W. The effect of phosphine on the absorption and circular dichromic spectra of cytochrome C and cytochrome oxidase. Pestic. Biochem. Physiol. 1975, 6: 350—362.
- 6 Rajendran, S., Muthu, M. The toxic action of phosphine in combination with some alkyl halide fumigants and carbon dioxide against the eggs of *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Stored Prod. Res. 1989, 25: 225—230.
- 7 梁 权,商志添,等.气调对磷化氢熏蒸杀虫的增效作用及其应用技术途径的探讨.粮食储藏,1980,(1): 1—11.
- 8 Spratt, E.C. Some effects of a mixture of oxygen, carbon dioxide and nitrogen in the ratio: 1: 1:8 on the oviposition and development of *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 1979, 15: 73—80.
- 9 Todmor, U., Applebaum S.W., *et al.* A gas-chromatographic micromethod. for respiration studies on insects. J. Exp. Biol. 1971, 54: 437—441.
- 10 张华晓,霍权恭,等.顶空气相法对粮食中磷化氢残留量的分析.郑州粮食学院学报,1989,(2): 75—79.
- 11 Brandford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 1972, 72: 248—254.
- 12 Price, N.R. A comparison of the uptake and metabolism of ^{32}P -radiolabelled phosphine in susceptible and resistant strains of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*). Comp. Biochem. Physiol. 1981, 69: 129—131.
- 13 Price, N.R. Active exclusion of phosphine as a mechanism of resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). J. Stored Prod. Res. 1984, 20: 163—168.
- 14 Bond, E.J., Uptis, E. Response of three insects to sublethal doses of phosphine. J. Stored Prod. Res. 1973, 8: 307—313.
- 15 Novarro, S., Calderon, M. Exposure of *Ephessia cautella* (Wlk.) pupae to carbon dioxide concentrations at different relative humidities: the effect on adult emergence and loss in weight. J. Stored. Prod. Res. 1974, 10: 237—241.
- 16 Kashi, K.P. & Bond, E.J. The toxic action of phosphine: Role of carbon dioxide on the toxicity

- of phosphine to *Sisophilus granarius* (L.) and *Tribolium confusum* Duval. J. Stored Prod. Res., 1975, 11:9—5.
- 17 翦福记, 陈启宗, 等. 磷化氢二氧化碳混合和薰蒸对腐食酪螨 *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk) 成螨毒杀作用研究. 郑州粮食学院学报, 1993, (3): 30—38.
 - 18 Bursell, E. Environmental aspects-humidity. in the Physiology of Insecta. ed. M. Rockstein. 1974, 2:43—48.
 - 19 Hopkins, T.L., Srirastave B.B.L. Rectal water transport in the cockroach, *Leucophaea maderae*: effect of lumen cations, carbon dioxide and ouabain. J. Insect Physiol., 1972, 18: 2213—2298.
 - 20 Bond, E.J., Robinson, J.R., et al. The toxic action of phosphine absorption and symptoms of poisoning in insects. J. Stored. Prod. Res. 1969, 5:289—298.
 - 21 Hayes, W.J.Jr. Pesticides studies in Man. Williams and Wilkin, Baltimore. 1982.
 - 22 Chefurka, W.A., Kashi. K.P., et al. The effects of phosphine on electron transport in mitochondria. Pestic. Biochem. Physiol., 1976, 6:65—84.
 - 23 Nakakita, H. The inhibitory site of phosphine. J. Pestic. Sci., 1976, 1:235—238.
 - 24 Hobbs, S.K., Bond, E.J. Response of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) to sublethal treatments with phosphine. J. Stored. Prod. Res., 1989, 25:137—146.

SOME BIOCHEMICAL ASPECTS OF PHOSPHINE IN COMBINATION WITH CARBON DIOXIDE AGAINST THE ADULTS OF *TYROPHAGUS* *PUTRESCENTIA* (SCHRANK) (ASTIGMATA: ACARIDAE)

JIAN FUJI CHEH QIZONG LU ANBANG

(The Department of Grain Storage, Zhengzhou Grain College Zhengzhou 450052)

Abstract This study shows that there is an increase in oxygen consumption of the adults of *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk) when the concentration of ambient carbon dioxide rises from 0% to 8% and to 16%, but further increase in the carbon dioxide concentration up to 32% and 64% causes the decrease of the oxygen consumption of the tested mites. In mixed fumigation with 0%、8%、16%、32%、64% CO₂ and 0.5mg/l PH₃, the uptake of phosphine is 1.11 ± 0.92 、 1.79 ± 0.56 、 5.14 ± 1.13 、 7.60 ± 1.80 、 $8.08 \pm 0.85 \mu\text{g/hr} \cdot \text{g}$ respectively. The uptake of phosphine was found to increase with increase of phosphine concentration at the same concentration of carbon dioxide. However, the uptake did not increase markedly when the concentration of phosphine (0.05mg/l、0.45mg/l) was multiplied. The results of *in vitro* and *in vivo* experiments led to the conclusions that phosphine inhibits the activity of cytochrome C oxidase and catalase, but a lower inhibitory effect on cytochrome C oxidase can be detected in *in vivo* experiments and the inhibition can be kept 1 week after exposure to the fumigant. The catalase was inhibited markedly in tested mites poisoned with phosphine and the inhibition was kept 2 weeks after exposure to the fumigant. In addition, the mode of action of phosphine and the role of CO₂ are discussed.

Key words *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk), phosphine, cytochrome C oxidase, catalase, oxygen consumption